

## بررسی تیتراژ آنتی بادی ضد هاری در افراد دریافت کننده واکسن ضد هاری در شهرستان شهرکرد

دکتر هدایت اله شیرزاد<sup>۱</sup>، دکتر مهدی حقانی سامانی<sup>۱</sup>، دکتر فروزان گنجی<sup>۲</sup>، دکتر سوسن سیبمانی<sup>۳</sup>، دکتر رضا خدیوی<sup>۴</sup>  
<sup>۱</sup>مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران، <sup>۲</sup>مرکز تحقیقات گیاهان دارویی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران، <sup>۳</sup>انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران، <sup>۴</sup>گروه پزشکی اجتماعی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۱۰ اصلاح نهایی: ۱۳۹۰/۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۴/۶

### چکیده:

**زمینه و هدف:** هاری بیماری ویروسی است که معمولاً بعد از گزش توسط حیوان هار روی می‌دهد. واکسیناسیون ضد هاری نقش مهمی در پروفیلاکسی بعد از برخورد با عامل بیماری دارد. این تحقیق به منظور تعیین تیتراژ آنتی بادی در افرادی که در شهرستان شهرکرد ۳ تا ۵ بار واکسن ضد هاری دریافت کرده بودند، انجام شد. **روش بررسی:** در این مطالعه توصیفی - تحلیلی با استفاده از سوابق موجود در مراکز بهداشتی شهرستان شهرکرد، از ۶۳ نفر از افرادی که پس از گزش حیوان در طی ۴ سال واکسن دریافت کرده اند، سرم خون تهیه و تیتراژ آنتی بادی ضد هاری آنها به روش RFFIT (Rapid Fluorescence Focus Inhibition Test)، مورد بررسی قرار گرفت. تیتراژ آنتی بادی ضد هاری، بیش از ۰/۵ واحد بین المللی، مصون تلقی شد. داده ها به کمک آزمون های آماری t مستقل و اسپیرمن تجزیه و تحلیل شد. **یافته ها:** ۳۰ نفر از بیماران ۳ نوبت و ۳۳ نفر ۵ نوبت واکسن ضد هاری و ۵ نفر از مجموعه ۶۳ نفر علاوه بر واکسن، ایمونوگلوبولین HRIG (Human Rabies Immune Globulin) نیز دریافت کرده بودند. میانگین مدت زمانی که از آخرین نوبت واکسیناسیون این افراد می گذشت، ۲۳/۳±۹/۶ ماه و میانگین تیتراژ آنتی بادی ضد هاری آنها ۲/۵±۱/۹ واحد بین المللی بود. ۳ نفر (۴/۸٪ افراد) دارای تیتراژ آنتی بادی کمتر از ۰/۵ واحد بین المللی بودند، بین تعداد دفعات دریافت واکسن، جنسیت مجروحین، مدت زمانی که از دریافت آخرین نوبت واکسیناسیون گذشته بود و سن با تیتراژ آنتی بادی ضد هاری بیماران رابطه معنی داری بدست نیامد. **نتیجه گیری:** در صورت مواجهه بهتر است تیتراژ آنتی بادی ضد هاری سرم افراد حیوان گزیده چک شود و کسانی که میزان آنتی بادی آنها زیر استاندارد جهانی است، دوز مجدد واکسن هاری دریافت کنند.

**واژه های کلیدی:** واکسیناسیون، تیتراژ آنتی بادی، هاری.

### مقدمه:

حداقل ۵۵۰۰۰ نفر هر ساله در اثر این بیماری می میرند که ۴۰ درصد موارد را کودکان زیر ۱۵ سال تشکیل می دهد (۶). علایم اولیه بیماری معمولاً بین ۱ تا ۴ روز طول می کشد و شامل تب، سر درد، گلو درد، تهوع، استفراغ های خشک و درد عضلانی می باشند. به دنبال آن علایم عصبی، حساسیت به تغییر دما، تحریک پذیری در برابر نور و صدا، بی خوابی، اضطراب و افسردگی ایجاد می شود (۷). ویروس هاری در یاخته های عصبی انسان یا حیوان ضایعه هایی ایجاد می کند که به نام

هاری بیماری حاد دستگاه عصبی است که تمام پستانداران از جمله انسان را گرفتار می کند. ویروس هاری از طریق آلوده شدن زخم به بزاق حیوان هار به انسان منتقل می شود. هر چند به ندرت راه های دیگری از جمله راه تنفسی یا خوردن بافت های آلوده یا از طریق بافت عفونی مثل پیوند قرنیه نیز به عنوان راه انتقال شرح داده شده است (۴-۱). در بین بیماری های عفونی، هاری دهمین علت مرگ و میر به حساب می آید (۵). بر اساس گزارشات سازمان جهانی بهداشت

همچنین بدلیل آنکه، اغلب این افراد حداقل یک بار واکسن ضد هاری دریافت کرده اند که در صورت بالا بودن سطح آنتی بادی محافظت کننده ضد هاری در سرم این افراد می توان از تزریق مجدد واکسن ضد هاری که با هزینه گزاف تهیه می شود جلوگیری نمود. به علاوه برای اطمینان از سطح ایمنی ناشی از واکسیناسیون هاری در افراد حیوان گزیده و پیشنهاد یک برنامه مناسب جهت برخورد با اینگونه افراد بر آن شدیم تا تیتراژ آنتی بادی ضد ویروس هاری را پس از یک دوره واکسیناسیون در افراد حیوان گزیده در شهرستان شهرکرد به روش RFFIT بررسی کنیم.

### روش بررسی:

این مطالعه توصیفی تحلیلی (از نوع مقطعی) با توجه به امکانات، بر روی ۶۳ نفر از دریافت کنندگان واکسن هاری در شهرستان شهرکرد انجام شد. افراد از بین لیست افرادی که در طی ۴ سال گذشته واکسن هاری از واحد مبارزه بیماری ها (بخش واکسیناسیون) دریافت نموده بودند به طور تصادفی ساده انتخاب شدند. پس از مشخص نمودن اسامی این افراد به محل سکونت آنها مراجعه و پس از اخذ رضایت ۲ سی سی خون وریدی از ایشان گرفته شده و پرسشنامه با توجه به فرمت موجود در مراکز بهداشتی و با استفاده از سوابق این افراد تکمیل گردید. سپس نمونه های گرفته شده در لوله های آزمایش نگهداری شد تا پس از لخته شدن، سرم آنها بدست آید. در نهایت سرم به دست آمده در آزمایشگاه مرکز بهداشت شهرکرد فریز شد. با هماهنگی انجام شده با انستیتو پاستور ایران، نمونه های جمع آوری شده، جهت تعیین تیتراژ آنتی بادی به آن مرکز منتقل شد. در این مطالعه متغیرهای سن، جنس، تعداد دفعات واکسیناسیون، دریافت یا عدم دریافت سرم، نوع حیوان گزنده، مدت زمانی که از دریافت آخرین نوبت واکسیناسیون می گذشت و تیتراژ آنتی بادی بررسی شد.

کاشف آن، Negri نامیده شده است. این اجسام که اجتماعی از ویروس هستند در شاخ آمون مغز، سلول های پیرامیدال قشر مغز و سلول های پورکنز بیشتر دیده می شوند. جسم نگری پاتوگونیستیک بیماری هاری است، اما در حدود بیست درصد موارد مشاهده نمی شود. بنابراین عدم مشاهده اجسام نگری، بیماری هاری را رد نمی کند (۴). در تشخیص میکروسکوپی صحیح ترین و سریع ترین روش شناسایی منبع آلوده، توسط روش ایمنوفلورسانس مستقیم و با استفاده از سرم ضد هاری نشاندار شده و با رنگ ایزوتیوسیانات فلوئورسین است (۳). روش سرولوژیک به کمک اندازه گیری آنتی بادی ضد ویروس هاری انجام می شود (۲). کمیته مشورتی بین المللی ایمن سازی سطح آنتی بادی محافظت کننده، به روش RFFIT (Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test) را ۱/۳۲ عنوان کرده است. سازمان بهداشت جهانی (WHO) حداقل تیتراژ قابل قبول آنتی بادی محافظت کننده را ۰/۵ واحد بین المللی بر میلی لیتر (IU/mL) و مرکز کنترل و پیشگیری بیماری ها (Centers for Diseases Control and Prevention= CDC) حداقل تیتراژ قابل قبول آنتی بادی محافظت کننده را در این روش ۱/۵ ذکر کرده است (۷). روش RFFIT اولین بار توسط Smith و همکاران شرح داده شد. اساس این روش همانند روش سرونوترالیزاسیون می باشد. اما تفاوت این دو روش در این است که، مرحله دوم روش RFFIT بر روی کشت سلول in vitro صورت می گیرد. این روش سریع، قابل تکرار و دقیق می باشد. همچنین علاوه بر سرم، می توان مایع نخاع انسان و سرم های حیوانات را نیز مورد آزمایش قرار داد. از طرفی می توان با این روش، تعداد زیادی نمونه را در یک روز مورد آزمایش قرار داد (۸، ۹). در شهرستان شهرکرد موارد زیادی از حیوان گزیدگی گزارش شده است (سالانه ۲۸۰۰ مورد) و حیوان گزیده ها برای دریافت واکسن و ایمنوگلوین به مراکز بهداشتی مراجعه می کنند. بنابراین، با توجه به اینکه قیمت بالای هر واکسن

نمونه ها به روش RFFIT طبق مراحل زیر تعیین تیترا شدند (۶). ابتدا سرم ها در پلیت های ۹۶ خانه ای به نسبت های ۱/۱ و ۹/۳ با استفاده از سمپلرهای اتوماتیک سریع رقیق شد. سپس به هر خانه، ویروس اضافه شد. به جز خانه های شاهد سلول و ویروس، یک ردیف از خانه های پلیت جهت کنترل وضعیت سلول و بررسی عیار ویروس به کار رفت. پلیت ۹۶ خانه ای پس از آماده شدن، جهت خنثی کردن ویروس، به مدت یک ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد CO<sub>2</sub> قرار داده شد. پس از انقضای زمان انکوباسیون به هر خانه پلیت ۵۰ میکرولیتر محیط حاوی ۵۰۰۰۰ سلول اضافه گردید. با شمارش سلول ها بر روی لام توما، تعداد آنها را در حجم یک میلی لیتر مشخص نموده و سپس محیط حاوی سلول، به نحوی رقیق گردید که هر ۵۰ میکرولیتر حاوی ۵۰۰۰۰ سلول بود. پلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباسیون CO<sub>2</sub> قرار داده شد. سپس سلول ها از انکوباسیون خارج شدند و محتویات آن در ظرفی محتوی مواد ضد عفونی تخلیه گردید. سپس پلیت به روش ایمنوفلوئورسانس رنگ آمیزی شد و در زیر میکروسکوپ فلوئورسنت مورد بررسی قرار گرفت. درصد آلودگی سلول ها به ویروس در هر چاهک که مربوط به یک رقت از سرم مورد آزمایش است، تعیین گردید. درصد آلودگی سلول ها به ویروس با مشاهده اجسام نگری تعیین شد. عیار بالای آنتی بادی در سرم باعث مهار ویروس در آلوده کردن سلول ها شده و وجود اجسام نگری در سلول نشانه نوترالیزه نشدن ویروس بوسیله سرم می باشد. اطلاعات بدست آمده با کمک نرم افزار SPSS و استفاده از میانگین انحراف معیار، فراوانی نسبی و مطلق توصیف و با آزمون t مستقل و اسپیرمن تجزیه و تحلیل شدند.

### یافته ها:

در این مطالعه ۶۳ بیمار که به علت گزش توسط حیوانات پروفیلاکسی، واکسن دریافت کرده بودند، شرکت داشتند. این افراد ۶ تا ۷۳ ساله (میانگین

سن ۲۴/۵±۱۶/۶ سال) بود که از این تعداد ۸ نفر مونث و بقیه (۵۵ نفر) مذکر بودند. ۳۹ نفر توسط سگ، ۱۵ نفر توسط گربه، ۳ نفر توسط میمون، ۴ نفر توسط الاغ، ۱ نفر توسط اسب و ۱ نفر توسط روباه گزیده شده بودند. از این تعداد، ۳۰ نفر ۳ نوبت واکسن ضد هاری و ۳۳ نفر ۵ نوبت واکسن ضد هاری دریافت کرده بودند. ۵ نفر از مجموع ۶۳ نفر علاوه بر واکسن ضد هاری، ایمونوگلوبولین HRIG نیز دریافت کرده بودند. بین دفعات دریافت واکسن ضد هاری و میزان تیترا آنتی بادی ضد هاری رابطه معنی داری وجود نداشت ( $P>0/05$ ). از آخرین نوبت واکسیناسیون این افراد ۵ تا ۳۸ ماه می گذشت و میانگین مدت زمانی که از آخرین نوبت واکسیناسیون بیماران می گذشت ۲۳/۳±۹/۶ ماه بود. مقدار تیترا آنتی بادی این افراد بین ۴/۲ تا ۱۴/۲ واحد بین المللی با میانگین ۲/۵±۱/۹ بود. میزان تیترا آنتی بادی ضد ویروس هاری در ۳ نفر از بیماران کمتر از ۵/۲ واحد بین المللی بود. این افراد ۴/۸ درصد کل حیوان گزیده ها شامل می شدند و تماماً جزو افرادی بودند که ۳ نوبت واکسن دریافت کرده بودند. بین تیترا آنتی بادی ضد هاری مجروحین با مدت زمانی که از آخرین نوبت واکسیناسیون آنها می گذشت بر اساس آزمون اسپیرمن رابطه معنی داری بدست نیامد ( $P>0/05$  و  $r=0/142$ ). بین تیترا آنتی بادی ضد هاری مجروحین با سن ایشان بر اساس آزمون اسپیرمن رابطه معنی داری بدست نیامد ( $P>0/05$  و  $r=0/032$ ). بین جنسیت مجروحین و تیترا آنتی بادی بر اساس آزمون t مستقل رابطه معنی داری بدست نیامد. از این افراد ۱ نفر در گروه سنی زیر ۲۰ سال، ۲ نفر در گروه سنی ۲۹ تا ۴۰ سال بودند. ۱ نفر اینها مونث و ۲ نفر مذکر بودند.

### بحث:

نتایج نشان دادند که اغلب دریافت کنندگان واکسن توسط سگ مورد گزش قرار گرفته بودند. همچنین، از نظر جنس نیز مردها، به علت گزش بیشتر با حیوانات به پروفیلاکسی بعد از برخورد نیاز داشتند. از

با موقعی که از سیستم تستی همو لوگ استفاده می شود بدست می آید (۱۳). از آنجا که هزینه تهیه واکسن ضد هاری زیاد می باشد و تزریق دوز یاد آور واکسن هزینه گزافی را به دولت تحمیل خواهد کرد. لذا به نظر می رسد تزریق واکسن یادآور بر اساس تعیین تیترا آنتی بادی معقول تر است. یافته های این پژوهش نیز این مطلب را تأیید می کند.

### نتیجه گیری:

بر اساس یافته های این مطالعه نیز همانند مرکز Kentucky و توصیه های سازمان بهداشت جهانی پیشنهاد می کنیم، افرادی که پروفیلاکسی بعد از برخورد دریافت کرده اند، نیاز به تزریق دوز یادآور واکسن نداشته و در صورت مواجهه بهتر است تیترا آنتی بادی ضد هاری سرم این افراد چک شود و کسانی که میزان آنتی بادی آنها زیر استاندارد جهانی (۰/۵ واحد بین المللی) است، دوز مجدد واکسن هاری دریافت کنند.

### تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که هزینه انجام طرح مذکور را تقبل نمودند و همچنین از همکاری مسئولین محترم بخش بیماری هاری انستیتو پاستور ایران قدردانی می نمایم.

۶۳ نفر مورد آزمایش، ۳۰ نفر ۳ نوبت واکسن ضد هاری و ۳۳ نفر ۵ نوبت واکسن ضد هاری دریافت کرده بودند. ۵ نفر نیز علاوه بر واکسن ضد هاری، ایمونوگلوبولین HRIG دریافت کرده بودند. ولی بین دفعات دریافت واکسن ضد هاری و میزان تیترا آنتی بادی ضد هاری رابطه معنی داری بدست نیامد. طبق تحقیقی که در سال ۱۹۸۹ تا ۱۹۹۰ روی ۱۸۹ مجروح در کانادا انجام شد، تیترا آنتی بادی ضد هاری در افرادی که واکسن هاری دریافت کرده بودند، بین ۲/۸ تا ۸۲/۲ واحد بین المللی گزارش شد (۸). همچنین در تحقیقی که در بین سال های ۱۹۸۳ تا ۱۹۸۴ بر روی ۱۸۷ نفر که واکسن هاری را در ۳ نوبت دریافت کرده بودند انجام شد تیترا آنتی بادی را در حدود یک ماه بعد از اتمام واکسیناسیون ۳ واحد بین المللی گزارش کرده اند (۱۰) که با یافته های این تحقیق که بین ۴/ تا ۱۴/۲ واحد بین المللی با میانگین  $2/5 \pm 1/9$  تعیین گردید مطابقت دارد. اگر چه سازمان بهداشت جهانی (WHO) حداقل تیترا قابل قبول آنتی بادی محافظت کننده را ۰/۵ واحد بین المللی در میلی لیتر تعیین نموده ولی طبق بررسی های به عمل آمده بنظر می رسد این وضعیت همواره قابل استناد نمی باشد (۱۲، ۱۱). هنگامی که از سیستم سرولوژیکی ناهمگونی برای اندازه گیری آنتی بادی خنثی کننده ویروس هاری استفاده می شود (وقتی واریانت های مختلف ویروس برای تولید واکسن استفاده می شود در تست RFFIT استفاده می شود) تیترا پائین تری از آنتی بادی در مقایسه

### منابع:

1. Wilde H, Briggs DJ, Meslin FX, Hemachudha T, Sitprija V. Rabies update for travel medicine advisors. Clin Infect Dis . 2003; 37(1): 96-100.
2. Lawrence C. Rabies virus and other rhabdoviruses. Harrison's principles of internal Medicine, edited. In: Anthony S. Fauci. 14<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 1998.
3. Nath A, Berger JR. Rabies. In: Goldman L, Ausiello D, Cecil textbook of medicine. 22<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2004. p: 2341-42.
4. Thomas P. Bleck Rabies virus. In: Mandell GM, Douglas RG, Benneth's JE. Principles and practice of infectious diseases. 15<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2000. 1811-19.

5. Smith JS. New aspects of rabies with emphasis on epidemiology, diagnosis and prevention of the disease in the United States. Clin Microbiol Rev. 1996; 9(2): 166-7.
6. Smith JS, Yager PA, Baer GM. A rapid tissue culture test for determining rabies-neutralizing antibody. In: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowski H, Editors. 4<sup>th</sup> ed. WHO. Switzerland: Lab Techniques in Rabies; 1996. p: 354-57.
7. Briggs DJ, Banzhoff A, Nicolay U, Sirikwin S, Dumavibhat B, Tongswas S, et al. Antibody response of patients after post exposure rabies vaccination with small intradermal doses of purified chick embryo cell vaccine or purified Vero cell rabies vaccine. Bull World Health Organ. 2000; 78(5): 693-8.
8. National Association of State Public Health Veterinarians, Inc. (NASPHV); Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Compendium of Animal Rabies Prevention and Control, 2007: National Association of State Public Health Veterinarians, Inc. (NASPHV). MMWR. Recomm Rep. 2007 Apr; 56(RR-3): 1-8.
9. Jackson AC, Fenton MB. Human Rabies and Bat Lancet; 2001. 375(9269): 1741.
10. Krebs JW, Long Marin SC, Childs JE. Ceases costs, and estimates of rabies post exposure prophylaxis treatments in the United States. J Public Health Manag Pract. 1998 Sep; (5): 56-62.
11. Habel K, Koprowski H. Laboratory data supporting the clinical trial of antirabies serum in persons bitten by a rabid wolf. Bull World Health Organ. 1955; 13(5): 773-9.
12. Quiambao BP, Dimaano EM, Ambasa C, Davis R, Banzhoff A, Malerczyk C. Reducing the cost of post-exposure rabies prophylaxis: efficacy of 0.1 ml PCEC rabies vaccine administered intradermally using the Thai red cross post-exposure regimen in patients severely exposed to laboratory-confirmed rabid animals. Vaccine. 2005; 23(14): 1709-14.
13. Thraenhart O, Briggs DJ. Rabies virus neutralization testing: does the variant of challenge virus used in the test influence the measurement of neutralizing antibody? Proceedings of the XIII International Meeting on Research Advances and Rabies Control in the Americas Oaxaca. 2002.

## The evaluation of anti-rabies antibody titer in vaccinated individuals in Shahrekord district

Shirzad H (PhD)<sup>1</sup>, Haghani M (MD)<sup>1</sup>, Ganji F (MD)<sup>2</sup>, Simani S (MD)<sup>3</sup>, Khadivi R (MD)<sup>\*4</sup>

<sup>1</sup>Celloular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran, <sup>2</sup>Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran, <sup>3</sup>Pastor institute of Iran, Tehran, Iran, <sup>4</sup>\*Social Medicine Dept., Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

Received: 9/Feb/2011    Revised: 5/March/2011    Accepted: 27/June/2011

**Background and aims:** Rabies is a viral disease which occurs commonly through the bite of a rabid animal. Anti rabies vaccination is an important prophylaxis after having contact with the disease agent. The aim of this study was to evaluate the anti-rabies anti-body titer among individuals who have had received 3-5 times anti-rabies vaccine.

**Methods:** In this descriptive-analytical study, according to the data collected from Shahrekord health centers, the blood serums of 63 individual's encountered animal bites within 4 years were collected and their anti-rabies antibody titer was tested using Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT). The anti-rabies titer more than 0.5 ul/ml was considered as protected against rabies. Data were analyzed using Spearman and the dependant t-test.

**Results:** In this study, 30 individuals were vaccinated 3 times and other 33 individuals were vaccinated 5 times. In all cases, 5 individuals received rabies vaccine together with Human Rabies Immune Globulin (HRIG). The mean time since last vaccination was  $23.3 \pm 9.6$  months (range, 5-38 months) and the mean antibody titer against rabies was  $2.5 \pm 1.9$  IU/ml (range, 0.4-14 IU/ml) only 3 individuals (4.8%) had the anti rabies titer less than recommended titer (0.5 IU/ml). There was no significant relationship between the numbers of vaccinations, individual's gender, mean time since last vaccination and the age of the individuals with antibody titer against rabies ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** In the case of encountering to suspected human rabies, it is better to check their serum anti-rabies antibody titer. If their anti body value is below than the global standard, they should receive a secondary doze of anti-rabies vaccination.

**Keywords:** Anti body, Rabies, Vaccination.

Cite this article as: Shirzad H, Haghani M, Ganji F, Simani S, Khadivi R. [The evaluation of anti-rabies antibody titer in vaccinated individuals in Shahrekord district. J Sharekord Univ Med Sci. 2011 Aug, Sept; 13(3): 84-89.]Persian

---

**\*Corresponding author**

Social Medicine Dept., Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran Tel: 0098-09133844196, E-mail:khadive@gmail.com